

ETUDE DE LA SPORULATION DE *GRACILARIA GRACILIS* (STACKHOUSE) M. STEENTOFT, L.M. IRVINE ET W.F. FARNHAM ET *GRACILARIA BURSA-PASTORIS* (S.G.GMELIN) P.C SILVA DE LA LAGUNE DE BIZERTE (TUNISIE)

Rafik BEN SAID*, H. AOUINI*, M. S. ROMDHANE** et R. M'RABET*

*Institut National des Sciences et Technologies de la Mer ; ** Institut National Agronomique de Tunisie (INAT) ; e-mail : Rafik.bensaid@instm.rnrt.tn

ملخص

تمت دراسة حث بث الأبواغ للطحلبين الأحمرين من نوع غراسيليريا (غراسيليريا غراسيليس و غراسيليريا بورساستوريس) وذلك بتجزئة المشرة الأنثى إلى ثلاثة أجزاء (الجهات العلوية والوسطى والسفلية). وهو ما يعكس درجة التقدم في السن للطحلب. وقد تم تعريض كل هذه الأجزاء إلى ضغوط مائية وحرارية وضوئية (شدة ضوئية وطول مدة الإنارة). وقد بينت النتائج العامة أن عدد الأبواغ التي تم التحصل عليها تحت دورة ضوئية (12/12) كانت في أغلب الأحيان أكثر من التي وقع تسجيلها تحت دورة ضوئية أقصر (8/16) وذلك مهما كانت شدة الإضاءة والجهة التي وقع منها أخذ جزء المشرة خاصة بالنسبة للنوع الأول من الطحالب التي وقعت دراستها.

كلمات مفاتيح: غراسيليريا ، بث الأبواغ ، ابواغ ثمرية ، إضاءة

RESUME

L'étude de l'émission de carpospores de deux espèces de gracilaires : *Gracilaria gracilis* et de *Gracilaria bursa-pastoris* a été réalisée sur des fragments de thalle femelle à cystocarpes. Ces fragments ont été prélevés à différents niveaux de la plante mère (apex, parties intermédiaires et basales) reflétant un degré plus ou moins avancé de l'âge de la plante femelle à cystocarpes. Les différents fragments ont été exposés à des stress hydriques, thermiques et lumineux (intensité lumineuse et photopériode). Les résultats globaux ont montré que le nombre de carpospores émises sous une photopériode (12/12) est généralement supérieur à celui enregistré sous une plus courte photopériode (8/16), quelle que soit l'intensité lumineuse et la partie du thalle dont les fragments sont issus notamment chez la première espèce.

Mots clés : *Gracilaria*; sporulation; carpospores; Lumière

ABSTRACT

sporulation in *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) m. steentoft, l.m. irvine et w.f. farnham and *Gracilaria bursa-pastoris* (S.G.Gmelin) P.C Silva from Bizerte lagune (Tunisia) : Study of carpospore shedding of *Gracilaria gracilis* and *Gracilaria bursa-pastoris* was carried out on cystocarpic female gametophyte fragments. These fragments were picked up at different levels (apices; medium parties and basal ones), which reflect the degree of the age of the mother plant. The fragments were exposed to different stress (hydric, thermic and luminous: intensity and photoperiod). The global results showed that the maximum of spore release was generally obtained for 12/12 photoperiod whatever the origin of the fragments on the plant and the intensity of the irradiance and this for especially the first species.

Key words: *Gracilaria*; sporulation; carpospores; Light.

INTRODUCTION

L'utilisation des végétaux marins en général et des algues marines en particulier est en progression continue de par le monde. Parmi les usages bien connus figurent l'alimentation humaine et animale, l'extraction des phycocolloïdes (alginates, carraghénanes et agar-agar), l'épuration des eaux, etc... Or, pour assurer l'approvisionnement des usines en matière première algale en grandes quantités, il n'est pas toujours possible de se contenter des collectes naturelles des algues désirées, telles que *Laminaria* et *Macrocystis* pour la production des alginates (FAO ;2003), *Euclima* (Freile-Pelegrin & Robledo ;2006 a et b); *Kappaphycus* (Phang ;2006), pour l'extraction des carraghénanes; *Pterocladia*, *Gracilaria* et *Gelidium*, pour la production de l'agar-agar (Fei & Huang ;1991 ; Anderson et al ;1991).

Pour cette raison, la culture de plusieurs espèces est devenue indispensable dans plusieurs pays tels que la Chine, les Philippines, la Corée, le Japon, le Chili et l'Argentine. Parmi les algues productrices de phycocolloïdes et cultivées à l'échelle mondiale, c'est le genre *Gracilaria* qui est le plus réputé. Les traditions culturelles des algues marines remontent à des dizaines d'années dans certains pays, voire des siècles dans d'autres. En Tunisie, l'intérêt aux algues et à la valorisation des plantes marines, d'une façon générale est très récent (1995-1996). Depuis cette date, différents travaux de recherches ont été entrepris à l'INSTM et ont intéressé l'évaluation des biomasses de *Gracilaria* et leur cartographie dans le lac de Tunis (Ksouri et al ;1996 ; Ksouri et al ;1997) et la lagune de Bizerte (Ksouri et Ben Said ;1998). Par ailleurs, des travaux ont porté sur l'extraction de l'agar-agar à partir de *Gracilaria* (Ben Said et

Ksouri,2000 ;Ben Said ;2002) et de *Gelidium* (Ben Said et al ;2011) . En plus, les activités de recherches ont intéressé la culture, notamment celle de *Gracilaria* dans la lagune de Bizerte, par bouturage.(Ksouri et Ben Said ;2000 ;Mensi et al ;2009,2010). Malgré les résultats positifs enregistrés, il nous est paru essentiel d'explorer la voie de propagation de *Gracilaria* par le biais des cellules spécialisées issues du cycle biologique, que sont les carpospores. En effet, pour assurer leur perpétuité, les algues peuvent utiliser deux modalités de reproduction : l'une dite sexuée faisant intervenir les cellules sexuelles ou gamètes, l'autre asexuée ou végétative ne faisant pas appel au phénomène de gamie. Ce deuxième type de reproduction revêt plusieurs aspects dont notamment la fragmentation des thalles : un fragment capable de donner un thalle entier se comporte ainsi comme une bouture (Pérez, 1997). Dans notre présent travail, on va mettre donc en lumière le premier type de reproduction qui s'est révélé très intéressant si on se projette dans l'avenir une certaine autonomie dans la production de ces algues en laboratoire puis ultérieurement à l'échelle industrielle. Pour cela, on se propose d'étudier la sporulation des carpospores émanant de la génération composée de thalles femelles à cystocarpes aussi bien de *Gracilaria gracilis* (= *Gracilaria verrucosa*) que de *Gracilaria bursa-pastoris*, récoltées du milieu naturel (la lagune de Bizerte). En effet, dans ce plan d'eau, les espèces citées ci-dessus sont présentes dans la frange littorale (-3 m) située entre Menzel Abderrahmane et Oued Guéniche (Ksouri et Ben Saïd, 1998). Dans ces zones, les deux espèces vivent souvent à l'état libre sur le fond, sur les biotopes photophiles peu profonds, dans des endroits calmes et même au niveau des côtes en association avec d'autres espèces d'algues telles que les Ulves et autres (Ksouri et al. 1999).

L'objectif de cette expérimentation est l'étude de l'influence de la lumière (intensité lumineuse et photopériode) sur la sporulation des différentes parties du thalle qui reflètent un état plus ou moins avancé de l'âge de l'algue. En effet, de nombreux auteurs ont mis en évidence dans leurs travaux la fondamentalité de ces facteurs dans la morphogénèse des Gracilaires. Parmi ceux-ci citons : Bird et al. (1977a et b), chez *Gracilaria sp* Kling., (1978 ; 1987) chez *Gracilaria gracilis*.

MATERIEL ET METHODES

Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé au cours de nos expérimentations est représenté par les deux algues rouges *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) M. Steentoft, L.M. Irvine et W.F. Farnham, et *Gracilaria bursa-pastoris* (S.G.Gmelin) P.C. Silva (1952). Elles ont

été récoltées à pied sur les rives de la lagune de Bizerte (37°8' à 37°14 N, 9°48' à 9°56'E) en janvier 2009.

METHODES

La méthode utilisée pour l'induction de la sporulation des deux algues étudiées est celle décrite pour les Rhodophycées *Gracilaria verrucosa* et *Cystoclonium purpureum* (Ben Saïd., 1986 et 1988). Elle consiste à faire subir aux algues différents stress hydriques, thermiques et lumineux. Les thalles de *Gracilaria gracilis* et *Gracilaria bursa-pastoris* récoltés ont été au préalable soigneusement lavés et nettoyés avec de l'eau de mer filtrée et stérilisée à l'autoclave à 120°C pendant 30 mn. Ensuite les échantillons constitués de gamétophytes femelles à cystocarpes ont été traités de la façon suivante : 3 types de fragments de 5cm de longueur chacun et porteurs de cystocarpes proéminents ont été sectionnés constituant ainsi 3 types de segments différents: segments apicaux, segments intermédiaires et segments basaux. Chaque type de segments reflète un degré d'âge de l'algue. Les premiers représentent la partie jeune, les seconds la partie moins jeune et les derniers la partie âgée. Les différentes parties sont pesées à l'état frais pour former des lots de 3g chacun, mais le nombre de cystocarpes par lot n'a pas été pris en compte.

Après dessiccation partielle dans du papier absorbant pendant deux heures à la température ambiante (20 °C) et à l'obscurité, les fragments à cystocarpes ont été déplacés dans une salle climatisée à 16 ± 2°C. L'incubation a eu lieu dans des boîtes de Pétri en verre, de 100mm de diamètre, contenant 20 ml d'eau de mer filtrée et stérilisée (Fig.1). Les boîtes ont été soumises à différentes conditions de lumière. Cette dernière est fournie par des tubes néon du type : Philips Blanc Industrie de 40W. Les photopériodes retenues sont : 8/16 et de 12/12, quant aux intensités lumineuses, elles sont de 775,2000 et 3600 Lux. Les expérimentations ont été réalisées en duplicata et le comptage des spores a été effectué sous un microscope optique dans une cuve de Dolfuss. La durée des expérimentations a été étendue sur huit semaines pour *Gracilaria gracilis* et quatre semaines pour *G. bursa-pastoris*. Le renouvellement de l'eau de mer dans les boîtes de Pétri a été effectué hebdomadairement.

Analyse statistique

Les résultats sont exprimés en moyennes (du nombre de spores comptées dans les deux boîtes de Pétri). Les données ont été analysées par le test one way ANOVA et lorsqu'il y a effet significatif ($p < 0.05$), le test de Tukey a été utilisé pour la comparaison des



Figure 1 : Les lots des différents segments sectionnés des thalles

moyennes. Les statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (version 17).

RESULTATS

1- Emission des carpospores chez *Gracilaria gracilis* sous une photopériode de 8/16:

a- Intensité lumineuse de 775 Lux :

Les résultats de sporulation des gamétophytes femelles à cystocarpes (Fig. 2), montrent qu'il y a toujours une bonne première sporulation durant la première semaine, mais ceci est suivi par une augmentation de la sporulation durant la deuxième semaine pour les parties apicales et intermédiaires des thalles. Une bonne et longue période d'émission des spores est signalée à partir de la troisième jusqu'à la cinquième semaine, essentiellement chez les segments apicaux (entre 6000 et 7000 spores émises). Les autres segments intermédiaires et basaux ont produit des quantités voisines de spores pendant ce laps de temps mais inférieures à celles des parties apicales (entre 3000 et 4000). Pendant les semaines suivantes, il y a eu chute progressive du nombre de spores chez les 3 types de segments. L'étude statistique a montré qu'il existe une différence significative entre les trois fragments,

essentiellement entre les parties apicales et intermédiaires ($p=0.0239<0.05$), et entre les parties apicales et basales ($p=0.0149<0.05$).

b- Intensité lumineuse de 2000 Lux :

Les résultats de sporulation des femelles à cystocarpes (Fig.3), montrent que la sporulation pendant la deuxième semaine est inférieure à celle enregistrée au cours de la première semaine chez tous les fragments des thalles.

Le meilleur nombre de spores obtenues durant la première émission (semaine 1) est celui des segments apicaux avec une moyenne de 1183 spores émises. Pendant la troisième semaine, il y a eu augmentation remarquable de la sporulation des trois types de segments qui va se poursuivre jusqu'à la cinquième semaine. Le maximum a été enregistré chez les segments intermédiaires pendant la 3^{ème} semaine (5500 carpospores). Pendant la cinquième semaine, ce sont les segments apicaux qui ont donné le maximum de spores (5100 spores). A partir de la 6^{ème} semaine, il y a eu chute nette des spores émises, mais les segments basaux semblent être plus productifs que les autres à la fin de l'expérimentation. Le test statistique a montré qu'il existe des différences significatives entre les semaines, entre les parties apicales et intermédiaires ($p =0.0402<0.05$).

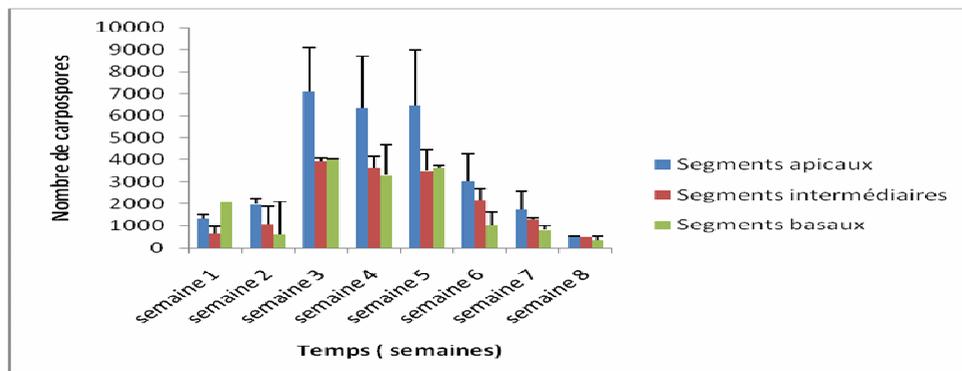


Figure. 2 : Evolution du nombre de carpospores de *Gracilaria gracilis* en fonction du temps (photopériode : 8/16, intensité lumineuse:775 Lux) . Les histogrammes représentent les moyennes \pm l'écart-type

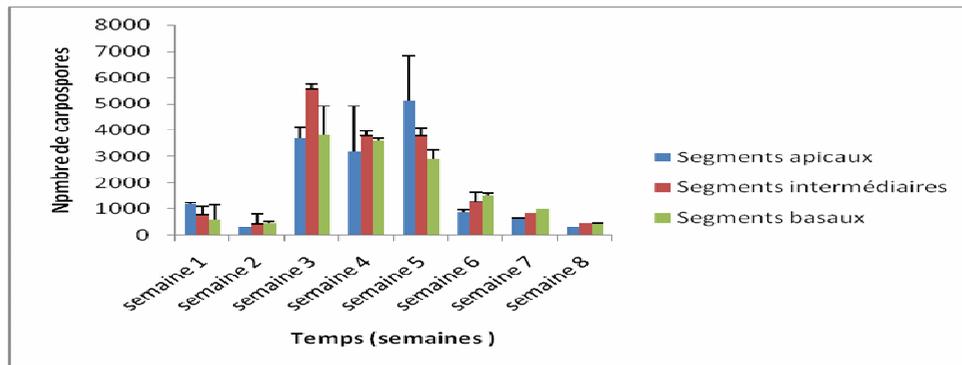


Figure.3: Evolution du nombre de carpospores de *Gracilaria gracilis* en fonction du temps (photopériode : 8/16, intensité lumineuse:2000 Lux). Les histogrammes représentent les moyennes \pm l'écart-type

c- Intensité lumineuse de 3600 Lux :

Selon la Fig.4, les résultats obtenus indiquent que la sporulation des différentes parties des thalles femelles incubés s'est déroulée d'une manière similaire à ce qui a été obtenu précédemment, mais le nombre de spores émises est inférieur. En effet, nous avons enregistré de faibles valeurs au cours des deux premières semaines. Puis, au cours de la troisième semaine, nous avons obtenu un maximum de spores pour les trois types de segments. Les parties apicales ont émis un nombre de spores maximal de 3800 spores, les parties intermédiaires : 3500 spores et les parties basales : 2900. Pendant la 4^{ème} et la 5^{ème} semaine, le nombre de spores émises est respectable, notamment chez les segments apicaux et intermédiaires. Puis, le nombre a diminué progressivement mais les apex ont donné un nombre de spores supérieur aux autres segments. L'étude statistique a montré qu'il y a une différence significative entre les semaines et entre les segments, notamment entre les segments intermédiaires et basaux ($p = 0.061 < 0.05$).

2- Emission des carpospores chez *Gracilaria gracilis* sous une photopériode de 12/12:

a- Intensité lumineuse de 775 Lux :

Les résultats obtenus (Fig. 5) montrent une bonne émission des spores chez les différents segments, suivie par une régression au cours de la deuxième semaine. Mais à la troisième semaine, il y a eu une sporulation importante qui s'est poursuivie jusqu'à la 5^{ème} semaine. Le maximum de spores libérées par les parties apicales, puis dénombrées à la 5^{ème} semaine est de 5800 spores. Les parties intermédiaires ont émis un nombre de spores voisin pendant la troisième et la cinquième semaine. Par contre, les parties basales ont donné un nombre de spores presque équivalent durant les cinq premières semaines. Dès la 7^{ème} semaine, la sporulation chez tous les types de segments a nettement diminué. L'analyse statistique a révélé une différence significative entre les semaines ($p = 0.000 < 0.05$), et entre la partie apicale et la partie basale ($p = 0.0361 < 0.05$), d'une part et entre la partie intermédiaire et la partie basale ($p = 0.080 < 0.5$), d'autre part.

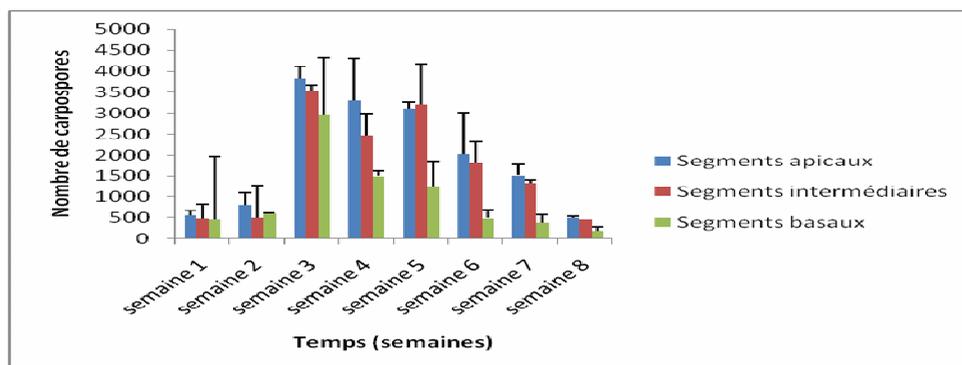


Figure.4: Evolution du nombre de carpospores de *Gracilaria gracilis* en fonction du temps (photopériode 8/16, intensité lumineuse:3600 Lux). Les histogrammes représentent les moyennes \pm l'écart-type

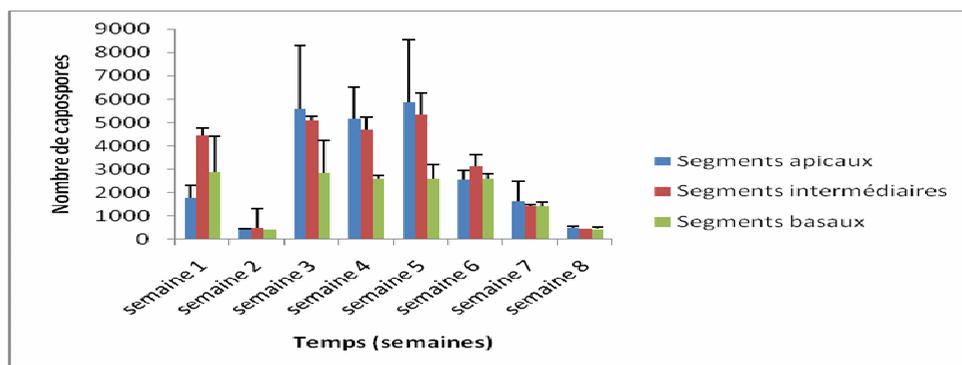


Figure 5 : Evolution du nombre de carpospores de *Gracilaria gracilis* en fonction du temps (photopériode 12/12, intensité lumineuse:775 Lux). Les histogrammes représentent les moyennes \pm l'écart-type

b- Intensité lumineuse de 2000 Lux :

Les résultats enregistrés sur la Fig.6 montrent un comportement presque similaire à ce qui se passe à 775 Lux. Mais, le nombre maximum de spores émises pour les parties apicales et intermédiaires a été obtenu au cours de la 3^{ème} semaine, soient respectivement 3140 et 3091 carpospores. L'émission maximale des parties basales a été enregistrée pendant la 4^{ème} semaine, soit 2845 spores. Les tests statistiques ont montré une différence significative entre les semaines et entre les parties intermédiaires et les parties basales ($p = 0.0445 < 0.05$).

c -Intensité lumineuse de 3600 Lux :

Les résultats obtenus (Fig.7) montrent une régression graduelle de la sporulation au cours du temps et ce pour les trois parties du thalle femelle. Le nombre maximal de spores émises a été obtenu au cours de la 3^{ème} semaine pour les parties intermédiaires (4612 spores). Toutefois, pour les parties apicales et basales, la sporulation a été maximale au cours de la première semaine, soient respectivement : 5687 et 2433 spores. Les tests statistiques montrent qu'il existe une différence significative entre les semaines ($p = 0.023 < 0.05$) et les différentes parties du thalle ($p = 0.0149 < 0.05$).

3- Emission des carpospores chez *Gracilaria bursa-pastoris* sous une photopériode de 8/16

a- Intensité lumineuse de 775 Lux:

La Fig.8, montre que le maximum de carpospores émises a été signalé au cours de la première semaine pour les segments apicaux, intermédiaires et basaux, soient respectivement 6525, 5410 et 3601. L'émission de carpospores a été élevée à la première semaine puis a diminué dès la deuxième semaine. Les parties apicales et intermédiaires se sont vite nécrosées et mortes dès la 3^{ème} semaine, alors que les parties basales ont maintenu une sporulation au cours des 4 semaines même si l'émission est devenue faible à partir de la 3^{ème} semaine.

L'analyse statistique montre qu'il existe une différence significative entre les semaines ($p = 0.000 < 0.05$). Par contre, il n'y a pas de différence significative entre les différents segments ($p = 0.6930 > 0.05$).

b- Intensité lumineuse de 2000 Lux :

Les résultats enregistrés sur la Fig.9 montrent également, que l'émission de carpospores a été élevée pendant la première semaine puis elle a diminué dès la deuxième semaine pour les parties apicales et les parties basales. Ceci n'est pas le cas pour l'émission des spores à partir des parties intermédiaires, puisqu'il y a eu une légère augmentation du nombre de spores entre la première et la deuxième semaine (de 3419 à 3723 spores émises). Les parties intermédiaires et basales se sont nécrosées plus vite sous cette intensité que les parties apicales, ce qui a provoqué naturellement la diminution rapide de l'émission et la mort de certaines spores. Les tests statistiques montrent qu'il existe une différence significative entre les quatre semaines ($p = 0.000 < 0.05$), mais non pas entre les différents types de segments ($p = 0.691 > 0.05$).

c- Intensité lumineuse de 3600 Lux :

Dans ces conditions, l'émission des carpospores à partir des parties apicales a été élevée pendant la première semaine puis a diminué dès la deuxième semaine (entre 800 et 1200 spores émises). Ceci n'est pas le cas pour l'émission des spores à partir des parties intermédiaires et basales. En effet, il y a eu augmentation du nombre de spores entre la première et la deuxième semaine pour atteindre le maximum obtenu notamment par les parties basales (Fig.10). Sous cette intensité lumineuse, les parties apicales et intermédiaires se sont nécrosées plus vite que les parties basales, ce qui a généré naturellement la diminution rapide de l'émission. Les tests statistiques montrent une différence significative entre les semaines et entre les parties apicales et intermédiaires ($p = 0.0328 < 0.05$).

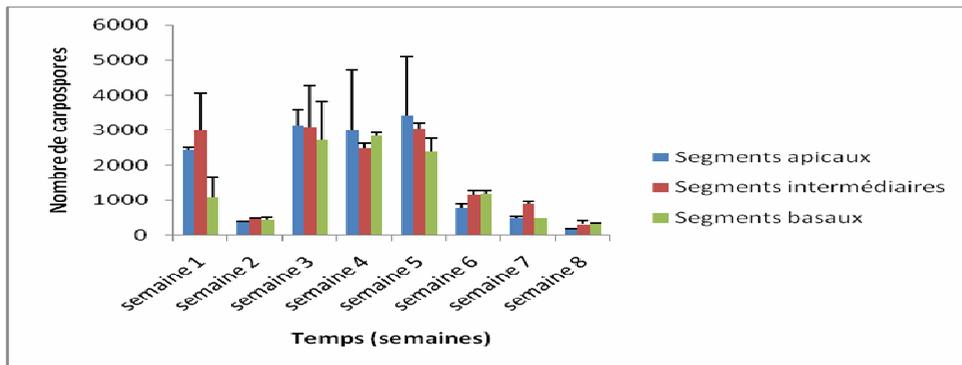


Figure 6: Evolution du nombre de carpospores de *Gracilaria gracilis* en fonction du temps (photopériode 12/12, intensité lumineuse:2000 Lux). Les histogrammes représentent les moyennes \pm l'écart-type

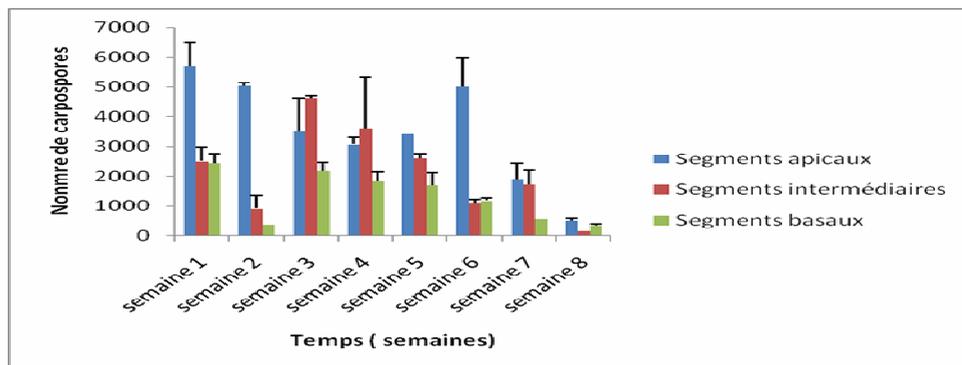


Figure 7 : Evolution du nombre de carpospores de *Gracilaria gracilis* en fonction du temps (photopériode 12/12, intensité lumineuse:3600 Lux). Les histogrammes représentent les moyennes \pm l'écart-type

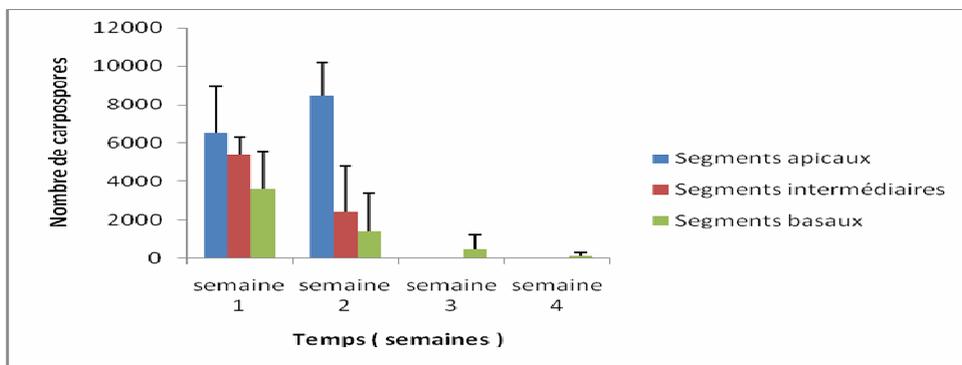


Figure 8: Evolution du nombre de carpospores de *Gracilaria bursa-pastoris* en fonction du temps (photopériode 8/16, intensité lumineuse:775Lux). Les histogrammes représentent les moyennes \pm l'écart-type

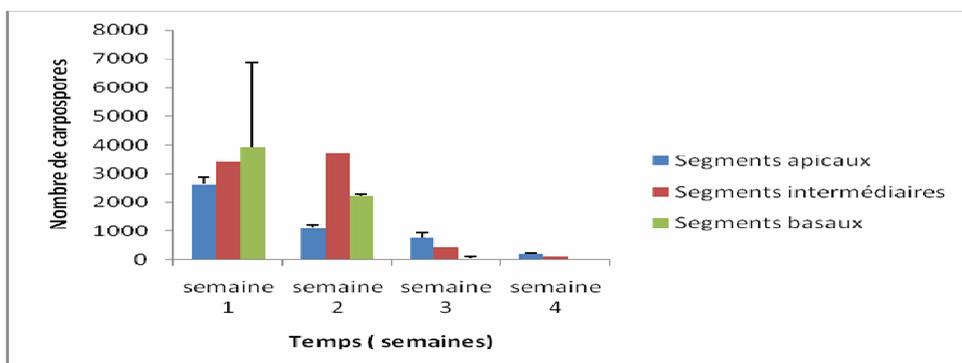


Figure 9 : Evolution du nombre de carpospores de *Gracilaria bursa-pastoris* en fonction du temps (photopériode 8/16, intensité lumineuse:2000Lux). Les histogrammes représentent les moyennes \pm l'écart-type

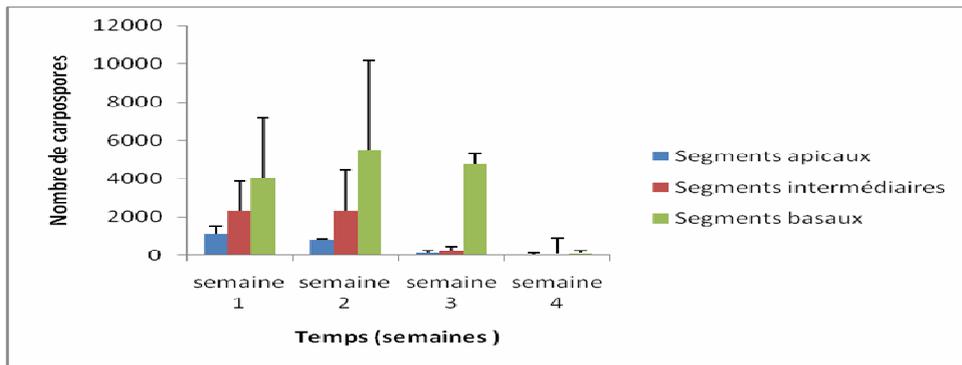


Figure 10 : Evolution du nombre de carpospores de *Gracilaria bursa-pastoris* en fonction du temps (photopériode 8/16, intensité lumineuse:3600Lux). Les histogrammes représentent les moyennes \pm l'écart-type

4- Emission des carpospores chez *Gracilaria bursa-pastoris* sous une photopériode de 12/12:

a- Intensité lumineuse de 775 Lux:

Les résultats obtenus (Fig.11) montrent que le maximum de spores émises a été signalé au cours de la première semaine pour les segments apicaux, intermédiaires et basaux, soient respectivement 1938, 1509 et 1271 spores émises par les différents segments. Par ailleurs, il a été remarqué qu'à cette intensité et cette photopériode, la sporulation a diminué au cours du temps. Au bout de la 4^{ème} semaine, il y a eu nécrose de tous les types de segments. Les tests statistiques montrent qu'il existe une différence significative entre les semaines et entre les différents types de segments ($p=0.029<0.05$).

b- Intensité lumineuse de 2000 Lux:

La Fig.12 montre que le maximum de carpospores émises a été signalé au cours de la première semaine, essentiellement par les segments intermédiaires (10541 spores). Cette émission a diminué au cours du temps. Pendant la 4^{ème} semaine, il y a eu nécrose des segments et arrêt de la sporulation. Les tests statistiques montrent qu'il y a une différence significative entre les semaines et les différentes

parties du thalle, selon le test de Mann-Whitney. Cette différence est signalée entre les parties apicales et basales ($p = 0.0234<0.05$), et entre la partie intermédiaire et la partie basale ($p = 0.038<0.05$).

c- Intensité lumineuse de 3600 Lux:

Selon les résultats obtenus (Fig.13), il apparaît clairement que les parties intermédiaires ont produit le maximum de carpospores (6000) pendant la première semaine. Ce phénomène s'est poursuivi jusqu'à la troisième semaine. Puis les thalles se sont nécrosés et ont dépéri à la 4^{ème} semaine. Les tests statistiques montrent qu'il existe une différence significative entre les semaines ($p = 0.000<0.05$) et entre les trois parties du thalle : entre les parties apicales et intermédiaires ($p = 0.0328<0.05$), entre les parties intermédiaires et basales ($p = 0.038<0.05$).

DISCUSSION ET CONCLUSION

Nos résultats pour *Gracilaria gracilis* se rapprochent de ceux trouvés par Ben Saïd (1996), qui a indiqué que la température de 18°C serait optimale pour la libération des spores de *Gracilaria verrucosa*.

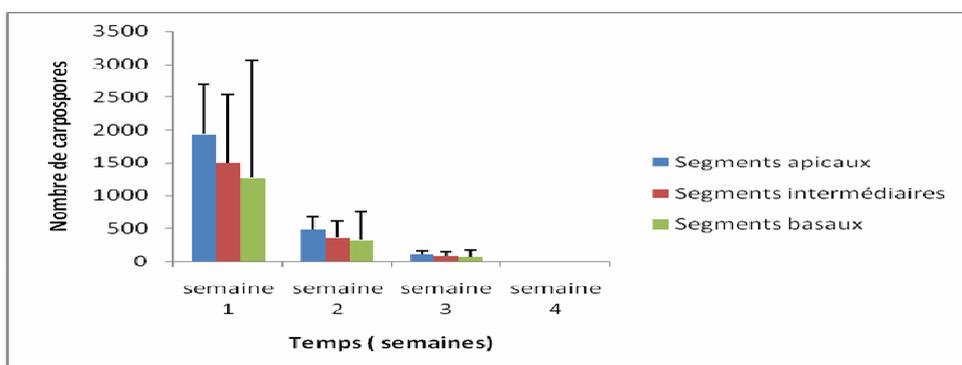


Figure 11 : Evolution du nombre de carpospores de *Gracilaria bursa-pastoris* en fonction du temps (photopériode 12/12, intensité lumineuse:775Lux). Les histogrammes représentent les moyennes \pm l'écart-type

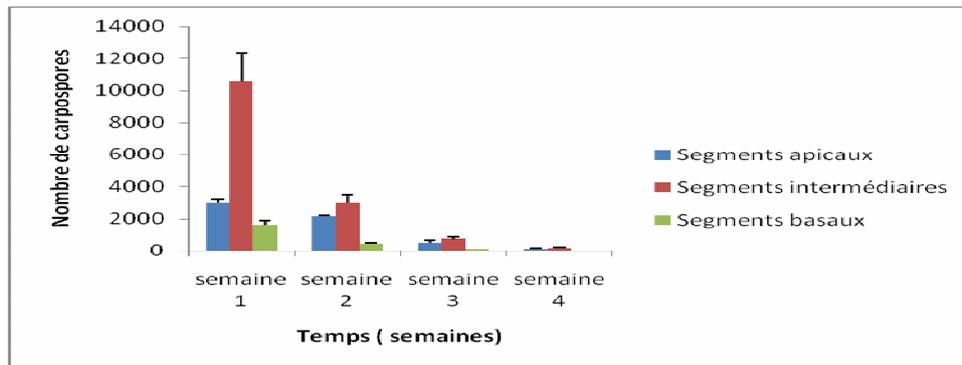


Figure 12 : Evolution du nombre de carpospores de *Gracilaria bursa-pastoris* en fonction du temps (photopériode 12/12, intensité lumineuse:2000Lux). Les histogrammes représentent les moyennes ± l'écart-type

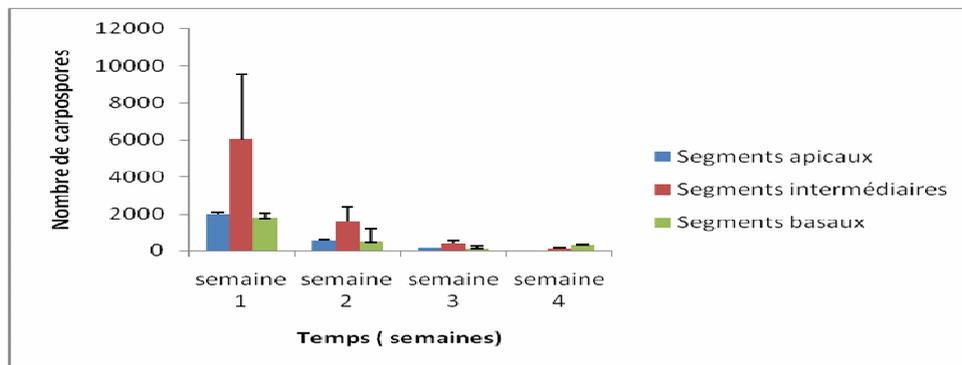


Figure 13 : Evolution du nombre de carpospores de *Gracilaria bursa-pastoris* en fonction du temps (photopériode 12/12, intensité lumineuse:3600Lux). Les histogrammes représentent les moyennes ± l'écart-type

En revanche, en ce qui concerne l'intensité lumineuse, l'éclairement optimal de 2000 Lux pendant l'incubation durant nos expériences ne coïncide pas avec celui indiqué par Ben Saïd (1996), qui a indiqué qu'un éclairage de 727 Lux ($16\mu E/m^2/s$) serait le meilleur pour induire la sporulation des carposporocystes. Concernant *Gracilaria bursa-pastoris*, les résultats obtenus corroborent avec ceux indiqués par Bird et al. (1977 a), qui indiquent qu'une température de 16°C et une intensité lumineuse de 2000 Lux seraient favorables à la sporulation des gamétophytes femelles à cystocarpes (et des tétrasporophytes). Par ailleurs, il apparaît qu'il existe un véritable photopériodisme dans le processus de l'émission des spores.

En effet, le nombre de spores émises sous une photopériode de 8/16 est inférieur à celui émis sous une photopériode de 12/12, quelle que soit la partie du thalle et ce, chez *Gracilaria gracilis*. Ces résultats viennent rejoindre ceux trouvés par Bird et al. (1977 b) pour *Gracilaria sp.* et ceux de Ben Saïd (1988) pour *Cystoclonium purpureum* (Hudson) Batters. En plus, les résultats obtenus pour *Gracilaria gracilis* se rapprochent de ceux de Kim (1970) qui préconise la dessiccation des thalles de *Gracilaria gracilis* pendant 3h, à 50% d'humidité et à l'obscurité.

Sawada (1958) et Lefebvre (1986) ont montré l'efficacité du passage d'un milieu agité à un autre plus calme, sur la libération des spores. Il s'agit dans notre cas, d'un simple transfert de l'algue de la mer (agitée) au laboratoire pour la mettre en incubation. Un tel phénomène est très important pour la pérennité et la prolifération de *Gracilaria* dans le milieu naturel. En effet, lorsque les conditions ne sont pas clémentes, notamment au moment des tempêtes, les thalles de *Gracilaria* peuvent être détachés, emportés loin de leur zone « natale », et les fragments dispersés. A ce moment là, ils peuvent contribuer à la propagation de l'espèce par la libération de leurs spores contenues dans leurs structures (cystocarpes ou tétrasporocystes). Il est vraisemblable qu'une déshydratation prolongée de *Gracilaria* (suivie d'une réhydratation) ne soit pas convenable à l'induction de la « ponte », à l'encontre de celui préconisé par Lecacheux (1986), soit environ 12h de dessiccation. Une dessiccation prolongée des thalles femelles pourrait agir négativement sur la teneur en eau des tissus. Il en résulterait une perturbation physiologique du carposporophyte, portant atteinte essentiellement aux échanges cellulaires. Cette perturbation serait préjudiciable à une émission de spores. De même, il est difficile de prévoir le début de la libération des

carpospores ainsi que la quantité émise (Sawada, 1958). Ces données varient selon leur position sur le thalle et la maturité de cystocarpe (et du tétrasporocyste, chez les tétrasporophytes) et donc dépendent de l'âge de la fronde gamétophytique (Lefebvre, 1986). Guzman – Uriostegui & Robledo (1999) montraient que la sporulation de *Gracilaria cornea* de Yucatan (Mexique) était maximale lorsque les plantes femelles à cystocarpes ont été desséchées pendant 1 h à l'ombre puis incubées à 26°C à une photopériode de 8/16 et une intensité lumineuse de 40µ mol.m⁻², soient environ 8000–9000 spores / cystocarpe . Ces auteurs ont fragmenté le thalle mère à cystocarpes mais sans avoir distingué les parties apicales, basales et intermédiaires, ce qui diffère de celui qui a été décrit dans le présent travail. La longueur des fragments est de 3-4 cm et le nombre de cystocarpes est de 7. Mohan Josef & Krishnamurthy (1997) ont montré que le maximum d'émission des carpospores chez *G. corticata* J.A.G (des côtes indiennes) a lieu entre le 1^{er} et le 8^{ème} jour d'incubation et qu'il existe un rythme journalier d'émission. De même, ils ont montré que le nombre de carpospores libérées /cystocarpe a varié entre 30, en septembre et décembre et environ 1275 en mois d'août. Mais si l'on tient compte du poids frais de l'algue, les résultats obtenus par ces auteurs montrent que le minimum a été enregistré en décembre (239,15/g) et le maximum en novembre (53200,4/g). Comparé à nos résultats, ce maximum est très supérieur aux valeurs extrêmes obtenues dans ce travail, notamment chez *Gracilaria bursa-pastoris*.

En étudiant *Gracilaria crassa* Harvay ex J. Agard provenant des cotés indiennes, Sukumaran & Kaliaperumal (2001) trouvaient que les tétrasporophytes soumis à différents facteurs environnementaux (température, lumière, salinité, exposition en soleil, etc...) libéraient le maximum de tétraspores à une intensité lumineuse de 20µ E. m⁻².s⁻¹ et une photopériode de 12/12.

Vraisemblablement, comme le mentionne Lefebvre (1986), les fluctuations d'émission de carpospores en fonction du temps, résultent de phénomènes complexes lesquels interviennent simultanément dans le fonctionnement du gonimoblaste, l'âge du carposporophyte et le contrôle des gamètes. Le même auteur fait appel au photopériodisme et au cycle lunaire pour expliquer les modalités de sporulation et son rôle dans la reproduction de *Gracilaria sp.* Ces hypothèses ainsi que nos résultats corroborent avec ceux de Ngan & Price (1979 ; 1983) qui pressentaient que l'émission des spores de *Gracilaria sp.* était liée au rythme des marées. Ainsi, les carposporophytes réagissaient plus ou moins positivement d'une heure à une autre pendant une journée et d'un jour à un autre selon les marées (son coefficient et son état : basse ou haute).

En conclusion, cette étude sur la sporulation des gamétophytes femelles à cystocarpes de *Gracilaria gracilis* et *G. bursa-pastoris* a mis en évidence les faits suivants : le stress par fragmentation et dessiccation (suive d'une réhydratation) pendant un certain temps a agi positivement sur le mécanisme de sporulation. Par ailleurs, cette étude a également permis de montrer que les gamétophytes femelles à cystocarpes de *Gracilaria gracilis* préfèrent une intensité lumineuse de 2000 Lux avec une durée d'éclairage de 12h pour émettre le maximum de spores. En plus, il paraît que ce sont les parties les plus jeunes voire les moyennement jeunes qui donnent un meilleur nombre de spores que les parties les plus âgées du thalle (partie basale), ce qui reflète une activité physiologique plus accentuée dans les parties apicales et sous apicales.

Nos résultats serviraient de base pour d'autres recherches plus approfondies ayant pour objectif la mise en place de projets d'algoculture en Tunisie, aussi bien à partir des spores que par bouturage.

BIBLIOGRAPHIE

- Anderson R. J ; Simons R. H., Jarman N. G. & Levitt G. J, .1991.-*Gelidium pristoides* in South Africa. *Hydrobiologia*.221(1)55-66.
- Ben Saïd R. 1986.- La rhodophycée agarophytes : *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss : Actions de la température et de lumière sur la sporulation et la croissance des carpospores et des tétraspores. D.E.S.S « Exploitation des ressources vivantes côtières ». Univ. CAEN. France.
- Ben Saïd R., 1988.- Etude de la rhodophycée *Cystoclonium purpureum*. Biométrie, Aquaculture, Extraction et analyse des carraghénanes. Mémoire de fin d'études de cycle de spécialisation (section halieutique), INAT. Tunisie.
- Ben Saïd R., 1996.-La rhodophycée agarophyte *Gracilaria verrucosa* . Etude de l'émission des carpospores et des tétraspores. *Revue de l'INAT. Vol.11N° 1* :127-136.
- Ben Saïd R., 2002.- L'agar-agar de *Gracilaria verrucosa* du lac de Bizerte : comparaison entre des populations naturelles et de culture. *Bulletin INSTM. Numéro spécial (7)*. Actes des 5èmes Journées Tunisiennes des Sciences de la Mer. (Ain Draham ,21-24 Décembre 2002). pp. 60-63.
- Ben Saïd R & Ksouri J., 1999.-La rhodophycée *Gracilaria verrucosa* du lac de Bizerte (Tunisie) : Variations mensuelles de la biomasse, du rendement d'extraction et de la qualité de l'agar. *Bulletin INSTM. Vol.26*.127-136.

- Ben Saïd R & Ksouri J., 2000.-La rhodophycée *Gracilaria verrucosa* du lac de Bizerte (Tunisie) : teneur et qualité de l'agar-agar. *1^{er} symposium international sur la végétation marine en Méditerranée ; la Corse (France)* .87-93.
- Ben Saïd R.; Romdhane M.S; El Abed A et M'rabet R., 2011.- Temporal variation of some biometric parameters, agar-agar and quality of *Gelidium spinosum* (S.G. Gmelin) P.C. Silva (Rhodophyta, Rhodophyceae, Gelidiales) from Monastir coasts (Tunisia). *Cahiers de Biologie Marine*.52(1) :71-78.
- Bird C. J.; Edelman T. and Mc Lachlan J., 1977a.- Studies on *Gracilaria*. Occurrence in Atlantic Canada, with particular reference to Pomquet Harbour, Nova Scotia. *Natural. Can.* 105: 257-266.
- Bird N.; Grund D. & Mc Lachlan J., 1977b.- Studies on *Gracilaria*. 5 *In vitro* life history of *Gracilaria sp.* from the Maritime Provinces. *Can. J. Bot.*, 55 (10): 1282-1290.
- F.A.O., 2003. - A guide to the seaweed industry. FAO fisheries Technical Paper.n°441.
- Fei X. G. & Huang L. J., .1991.-Artificial sporeling and field cultivation of *Gelidium* in China. *Hydrobiologia*..221:119-124.
- Freile- Pelegrin Y.; Robledo D. & Azamar J.A., 2006 a. - Carrageenan of *Euclima isoforme* (Solieriaceae, Rhodophyta) from Yucatan, Mexico. I. Effect of extraction conditions. *Bot.Mar.*49:65-71.
- Freile- Pelegrin Y. & Robledo, D., 2006 b.- Carrageenan of *Euclima isoforme* (Solieriaceae, Rhodophyta) from Yucatan, Mexico. II. Seasonal variations in carrageenan and biochemical characteristics. *Bot.Mar.*49:72-78.
- Guzman-Uriostegui A & Robledo d.,-1999.-Factors affecting sporulation of *Gracilaria cornea* (Gracilariales, Rhodophyta) carposporophytes from Yucatan, Mexico. *Hydrobiologia*.398/399:285-290.
- Kim D. H., 1970.- Algues économiquement importantes au Chili. 1. BOT de *Gracilaria*. *Mars*, 13, 140-162.
- Kling R., .1978.- Recherches des conditions optimales de croissance de *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenfuss (Gigartinales, Gracilariacées). Thèse de 3^{ème} cycle. Université des Sciences et Techniques de Lille.
- Kling R., 1987.- La construction du thalle de *Gracilaria verrucosa* (Rhodophycées, Gigartinales) : édification de la fronde, essai d'interprétation phylogénétique. *Crypt. Algol.*, 7(3) : 231-246.
- Ksouri J.; Ben Saïd R. & BEJI O., 1996.- Cartographie des peuplements de la macroalgue *Gracilaria* (Gigartinales ; Gracilariales) dans le lac nord de Tunis . *Bulletin INSTM* .Vol.23 (2) :55-72.
- Ksouri J.; Ben Saïd R. & BEJI O., 1997. - Evaluation des potentialités quantitatives naturelles des gracilaires (algues rouges) du lac nord de Tunis. *Bulletin INSTM*. Vol.24 : 15-27.
- Ksouri J. & Ben Saïd R. 1998.- Potentialités en macro algues : cartographie et biomasse de l'agarophyte rhodophycée *Gracilaria verrucosa* dans le lac de Bizerte. *Bulletin. INSTM*. Vol.25: 17-34.
- Ksouri J.; Ben Saïd R. & Pellegrini M., 1999.- Résultats des cultures expérimentales de la rhodophycée *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss dans le lac de Bizerte, Tunisie septentrionale. *Bulletin. INSTM*. Vol.26 (1) : 113-125.
- Ksouri J. & Ben Saïd R., 2000.- Intégration de l'algoculture dans la gestion lagunaire du lac de Bizerte (Tunisie septentrionale). Actes du *1^{er} Symposium international sur la végétation marine en Méditerranée ; la Corse (France)*. 155-158.
- Lecacheux E. 1986.- Recherches préliminaires de la mise au point d'une technique culturale pour l'agarophyte *Gracilaria verrucosa*. Rapport de stage du D.E.S.S. « Cultures marines ». Université de Caen. France.
- Lefebvre C., 1986.- Comportement, en cultures expérimentales des deux générations diploïdes du *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss : le carposporophyte à carpospores et le tétrasporophyte immature. Thèse de 3^{ème} cycle. Université des Sciences et Techniques de Lille., 132p.
- Mensi F ; Ksouri J ; Hammami W & Romdhane M S. 2009.-L'algue rouge *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss de la lagune de Bizerte (Tunisie septentrionale) : essai de culture en mode suspendu et composition biochimique. *Bulletin INSTM*. Vol.36.125-137.
- Mensi F ; Ksouri J ; Hammami W & Romdhane M S. 2010.-Choix du site de culture de l'algue rouge *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss dans la lagune de Bizerte : caractéristiques physico-chimique de l'eau. *Bulletin INSTM*. Vol.37.133-144.
- Mohan Joseph & Krishnamurthy V.,-1977.- Studies in the shedding of carpospores in *Gracilaria corticata* J. Ag. *Seaweed Res.Util.*Vol.2.1-8.
- Ngan Y. & Price I.R., .1979.- Systematic significance of spore size in the Florideophyceae (Rhodophyta). *Br. Phycol.*, 14: 285-303.

- Ngan Y & Price I.R., 1983. -Periodicity of discharge in tropical Florideophyceae (Rhodophyta). *Birt. Phycol. J.* 18: 83-95.
- Pérez R., 1997.-Ces algues qui nous entourent. Conception actuelle, rôle dans la biosphère , utilisations ,culture. IFREMER.272p.
- Phang S.M., .2006.-Seaweed resources in Malasya : Current status and future prospects. *Aquat. Ecosyst.Health & Management.* Vol.9. (2)185-202
- Sawada T., .1958. -Studies on the carpospore liberation in *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenfuss. III. Carpospore liberation not accompanied with the drying. *Sci. Bull. Fac. Agr. Kyushu Univ.*, 16 : 387-396.
- Sukumaran S & Kaliaperumal N., 2001-Sporulation in *Gracilaria crassa* Harvey ex.J.Agardh at different environmental factors. *Seaweed .Res.Utiln.*23 (1&2):81-87.